

Introducció

Malaltia de Parkinson

Malaltia degenerativa, causada per mort de neurones dopaminèrgiques. Genera problemes motors. És freqüent en persones d'edat avançada.

Síntomes

Motors:

- Bradicinesia
- Alteració motricitat
- Tremolor fi en repòs
- Rigidesa muscular

Cognitius:

- Disfunció executiva i de llenguatge
- Processament mental lent
- Pertorbacions visuals

Altres:

- Dolor
- Depressió
- Ansietat



Hipòtesis sobre causes de la mort cel·lular:

- Oxidació degut a ROS.
- Presència de molècula tòxica.
- Deteriorament DNA mitocondrial.
- Accelerament desgast neuronal amb l'edat.

Tractaments actuals:

Farmacològics

Substituents de dopamina (L-dopa)

Diffícil preveure dosi, apareix tolerància.

Quirúrgics

Estímul elèctric, talidomtomia, palidotomia.

Mètodes agressius i ir-reversibles

Cèl·lules mare

Cèl·lules no especialitzades. Es poden autorenovar sense diferenciar-se. La diferenciació es dona gràcies a les condicions del medi, que promouen la formació de cèl·lules d'un o altre tipus.



Pluripotents induïdes (iPS): cèl·lules adultes a les que se'ls ha re-vertit la diferenciació → administració de còctel Yamanaka (Oct4, Sox2, c-Myc, Klf4).

Adultes: es troben de forma natural entre les cèl·lules diferenciades de cada teixit. Són multipotents.

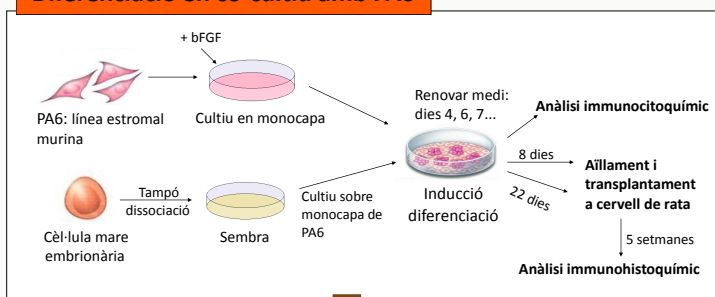
Embrionàries: - pluripotents: ICM d'embrions blastòcit.
- totipotents, si venen de blastòmers aïllats.

* **Avantatges:** major plasticitat

* **Problemes:** manipulació embrions (dilemes ètics).

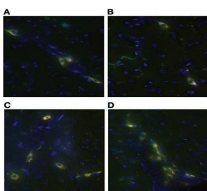
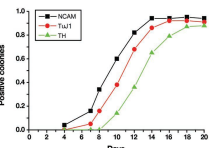
Obtenció de neurones dopaminèrgiques

Diferenciació en co-cultiu amb PA6



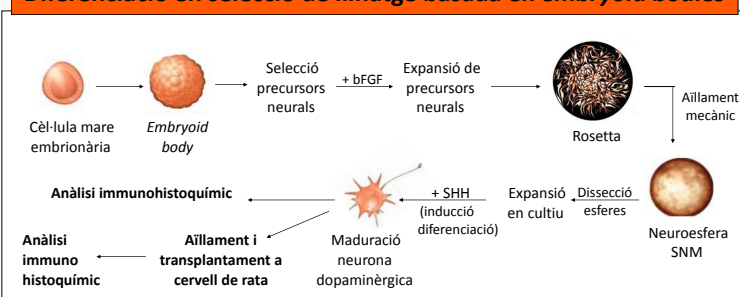
Resultats:

- Al cap de 3 setmanes de diferenciació, el 87% de colònies contenen percentatges elevats de cèl·lules TH⁺
- El marcador NCAM apareix al dia 4 de diferenciació. Als 14 dies, el 92% de les cèl·lules l'expressen.



- Els nivells de supervivència post-trasplantament són el doble en les cèl·lules sotmeses a 22 (C,D) dies de diferenciació front a les sotmeses a 8 dies (A,B).
- Marcadors negatius (SMA) apareixen en les dos poblacions, però en major nombre a menor temps de diferenciació.

Diferenciació en selecció de llinatge basada en embryoid bodies

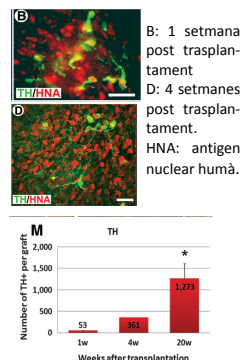


Resultats:

- Un cop es realitza el trasplantament al cervell:
 - 50% de les rates continuen vives 20 setmanes després.
 - Les neurones DA sobreviuen al trasplantament. Moltes moren els dies posteriors, però proliferen ràpidament.
 - Al cap de 20 setmanes s'observa recuperació del comportament normal en els animals.

Avantatges:

- Obtenció neurones madures en 14 dies.
- No requereix feeder layer (s'evita contaminació).
- Taxa de diferenciació elevada (no apareixen tumors).



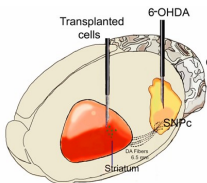
Tractament dels animals:

Lesions unilaterals en mesencèfal de les rates, amb 6-OHDA.

- Es produeix mort de neurones dopaminèrgiques.
- Els animals adquireixen fenotip típic de Parkinson.

Trasplantament neuronal:

- Les neurones diferenciades són implantades amb una pipeta de vidre.



Caracterització de les cèl·lules:

Marcadors positius:

- **TH:** enzim encarregat de sintetitzar dopamina.
- **NCAM:** marcador neural.

Marcadors negatius:

- **Oct4:** marcador de pluripotència.
- **SMA:** present en teixits no neuronals.
- **DBH:** converteix DA a NA, present en neurones no dopaminèrgiques.

Alternativa: Diferenciació in vivo

Implantació ESC en la regió mesencefàlica del cervell. Diferenciació provocada pels senyals del microambient.

Inconvenients:

- Diferenciació no específica.
- Elevat risc de tumors (20% dels casos)
- Dificultat per ajustar la dosi
- Elevada concentració ESC → agregats
- Baixa concentració ESC → no efectiu

Conclusions:

Implantació de cèl·lules indiferenciades – aparició freqüent de tumors, baixa taxa de supervivència cel·lular.

Cocultiu amb PA6 – nivell de diferenciació elevat, però baix nombre de cèl·lules supervivents al trasplantament. Implementació de cèl·lules no dopaminèrgiques.

Selecció amb Embryoid bodies – Taxa de diferenciació elevada (no apareixen tumors). Alta supervivència a trasplantament i proliferació, reducció exitosa de símptomes Parkinson.

Bibliografia rellevant:

- Zeng X et al. *Dopaminergic differentiation of human embryonic stem cell*. Stem Cells. 2004; 22: 925-40.
- Cho MS et al. *Highly efficient and large-scale generation of functional dopamine neurons from human embryonic stem cells*. PNAS. 2008; 105(9): 3392-7.
- Yang D et al. *Human embryonic stem cell-derived dopaminergic neurons reverse functional deficit in Parkinsonian rats*. Stem Cells. 2008; 26(1): 55-63.
- Björklund LM et al. *Embryonic stem cells develop into functional dopaminergic neurons after transplantation in a Parkinson rat model*. PNAS. 2002; 99 (4): 2344-9.
- Ben-hur T et al. *Transplantation of Human Embryonic Stem Cell-Derived Neural Progenitors Improves Behavioral Deficit in Parkinsonian Rats*. Stem Cells. 2004; 22: 1246-55.